

THESIS

~~PHILIPPS~~  
MARBURG

1965

Aus dem Pharmakologischen Institut in Marburg  
Direktor: Prof. Dr. med. W. Schmid

**Der Redoxzustand der Ubichinone  
im Herzmuskel  
unter Fermentblockade und seine  
Beeinflussung durch Pharmaka**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin  
der hohen Medizinischen Fakultät  
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Hermann von Greve-Dierfeld**

aus Wittlich/Eifel

Marburg 1965

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg



Aus dem Pharmakologischen Institut in Marburg  
Direktor: Prof. Dr. med. W. Schmid

# **Der Redoxzustand der Ubichinone im Herzmuskel unter Fermentblockade und seine Beeinflussung durch Pharmaka**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin  
der hohen Medizinischen Fakultät  
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Hermann von Greve-Dierfeld**

aus Wittlich/Eifel

**Marburg 1965**

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Marburg am: 27. 7. 1965

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. H. Hensel

Referent: Prof. Dr. med. M. Siess

Correferent: Prof. Dr. med. W. Schmid

**Meiner Mutter**

**in Dankbarkeit gewidmet**



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                                                                                            | Seite   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| I Einleitung                                                                                                                                                               | 1 - 2   |
| II Methodik ( Vorhofpräparation, Ubichinon- und Adeninukleotidbestimmung )                                                                                                 | 3 - 8   |
| III Ergebnisse:                                                                                                                                                            |         |
| A) Untersuchungen zur Methode der Ubichinonbestimmung                                                                                                                      | 9 - 13  |
| B) Beeinflussung des Ubichinonredoxstatus in vivo                                                                                                                          |         |
| I) Ubichinonredoxstatus unter Adrenalin und Persantin ohne Stoffwechselblock                                                                                               | 14 - 17 |
| II) Ubichinonredoxstatus und energiereiche Phosphate unter NaF-Block der Glykolyse und ihre Beeinflussung durch Adrenalin, Laktat und Persantin                            | 18 - 26 |
| III) Ubichinonredoxstatus bei NaF-Block der Glykolyse und gleichzeitiger Glykogenolyse sowie Einwirkung von Laktat, Adrenalin und Persantin ( Kurz- und Langzeitversuche ) | 27 - 30 |
| IV) Ubichinonredoxstatus und Natriumfluorazetatblock des Zitronensäurezyklus                                                                                               | 31 - 32 |
| V) Ubichinonredoxstatus bei Anaerobiose                                                                                                                                    | 31 - 32 |
| IV Diskussion der Ergebnisse                                                                                                                                               | 33 - 36 |
| V Zusammenfassung                                                                                                                                                          | 37      |
| Literaturverzeichnis                                                                                                                                                       | 38 - 39 |



## Einleitung

Zahlreiche Untersuchungen weisen darauf hin, dass das Ubichinonsystem seinen Platz in der Atmungskette vor den Cytochromen hat, wobei ein Beweis für den genauen Wirkungsort und seine Wirkungsart noch aussteht (Übersicht s. Hatefi, Y. (1)). Auch über Zusammenhänge zwischen Funktion der Zelle und Ubichinonredoxstatus in vivo ist bislang wenig bekannt. Nach den Ergebnissen von Hoffmann et al. (2) ist anzunehmen, dass der Ubichinonredoxzustand des Herzens am Gesamtorganismus auch durch starke Belastungen wie Adrenalin oder Thyroxin nicht zu verändern ist. Weitere Versuche von Hoffmann et al. (3) haben aber gezeigt, dass am isolierten Organ durch Stoffwechselblocks im Wasserstofffluss zur Atmungskette (Malonat, Amytal) deutliche Veränderungen im Ubichinonredoxzustand im Sinne einer Oxydation zu erhalten sind. In der vorliegenden Untersuchung wurde dieser Weg fortgesetzt. Es wurden vor allem zwei Fermentgifte untersucht:

- 1) Natriumfluorid, das den Stoffwechsel innerhalb der Glykolyse durch Hemmung der Phosphobrenztraubensäure-Enolase blockiert. Dabei wurde durch anschliessende Gabe von Adrenalin versucht, durch mechanische Mehrarbeit und Stoffwechselsteigerung die Wirkung des Natriumfluoridblockes auf den Wasserstofffluss deutlicher hervortreten zu lassen.
- 2) Natriumfluorazetat, dessen blockierende Wirkung im Tricarbonsäurezyklus auf der Bildung von Fluorzitronensäure beruht.

In weiteren Reihen wurde 2,6 - Bis ( diaethanolamino ) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido ( 5,4 - d ) pyrimidin ( Dipyridamol, Persantin ) in die Untersuchungen einbezogen. Diese Substanz war aus zwei Gründen von Interesse. Nach Untersuchungen von Siess (4) sowie Kunz et al. (5) tritt am isolierten Herzvorhof unter Persantin eine Aktivierung des Zitronensäurezyklus, also eine Mehranlieferung von Wasserstoff an die Atmungskette

ein, und es wird eine beschleunigte Auffüllung der energiereichen Phosphate beobachtet, wenn diese vorher durch starke Arbeitsbelastung oder Erstickung reduziert wurden. Jetzt interessierte besonders, ob dabei auch zugleich Veränderungen im Ubichinonredoxzustand vorhanden sind. Die Versuche wurden am isolierten Meerschweinchenherzvorhof durchgeführt. Die Ubichinonbestimmung wurde nach Pumphrey und Redfearn, in der Modifikation nach Hoffmann (2) durchgeführt. In gleichzeitigen Parallelversuchen wurden die energiereichen Phosphate nach Kunz et al. (6) bestimmt.

## II

### M e t h o d i k

a) Präparation des isolierten Meerschweinchenherzvorhofes nach Schmid und Siess (7) :

Männliche Meerschweinchen (250 - 400 g) werden durch Nackenschlag getötet und auf dem Präparierbrett befestigt. Nach einem Medianschnitt vom Hals bis zur Symphyse wird das Fell seitlich abgetrennt, die Bauchdecke bis zur Symphyse eröffnet und die Muskulatur seitlich am Thorax bds. bis zum Rücken abgeschnitten. Von unten her wird der Thorax an den Rippenbögen weit seitlich durchtrennt, das Zwerchfell am Rippenbogen abgeschnitten und die aufgeklappte Thoraxvorderwand an der Clavicula abgetrennt. Beide Lungenflügel werden am Hilus abgeschnitten. Der Herzbeutel wird leicht gespannt, aufgeschnitten und nach hinten gestreift bis die Herzohren freiliegen. Der Vagus wird entlang der rechten Vena cava abgespalten und Situationsfäden an der Vena cava superior und inferior angelegt. Die Herzspitze wird gefasst und die Kammermuskulatur nahe der Vorhof-Kammergrenze abgeschnitten. Hinter dem leicht gespannten oberen Situationsfaden werden die Herzvorhöfe von Trachea und Mediastinum gelöst und unterhalb des unteren Situationsfadens abgeschnitten. Das Herzvorhofpräparat wird in Petri-Schalen mit Phosphat-Tyrode-Lösung b l u t l e e r gespült. Die Reste der Ventrikelmuskulatur mit Aorta und Pulmonalis werden am Annulus fibrosus sauber entfernt. Eventuelle Thromben werden vorsichtig aus den Herzohren gelöst. Mit kleinen Serfinen aus Platin-Silber Legierung wird das Präparat an den Herzohren gefasst und in der Fritte befestigt. Diese 70 ml Nährlösung fassende Fritte befindet sich in einem grossen, durch einen Thermostaten auf 30°C gehaltenen Wasserbad und wird mit 100 ml reinem Sauerstoff in der Minute durchströmt. Über einen Schreibhebel ( Übersetzung etwa 1 : 20, Belastung ca. 1 g ) werden die isotonischen Vorhofkontraktionen unter automatischer Zeitschreibung auf der

berussten Trommel eines Kymographen aufgezeichnet. Nach 30 Min. Einschlagzeit werden die zu untersuchenden Substanzen in konzentrierter Lösung zugegeben.

Herstellung der modifizierten Tyrode-Nährlösung aus konzentrierten Stammlösungen:

|                                   |      |          |
|-----------------------------------|------|----------|
| NaCl                              | 8 %  | 100.0 ml |
| KCl                               | 10 % | 2.0 ml   |
| CaCl <sub>2</sub>                 | 10 % | 2.0 ml   |
| MgCl <sub>2</sub>                 | 10 % | 1.0 ml   |
| Aqua dest.                        | ad   | 900.0 ml |
| + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | m/15 | 20.0 ml  |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  | m/15 | 80.0 ml  |
| + 3.0 g d-Glucose                 |      |          |

b) Ubichinonbestimmung nach Pumphrey und Redfearn (8),  
modifiziert nach Hoffmann (2) :

Der Meerschweinchenherzvorhof wird aus der Fritte herausgenommen und von anhaftenden Tropfen befreit. Er wird mit einer in flüssiger Luft auf  $-180^{\circ}\text{C}$  vorgekühlten Spezialzange nach Wollenberger (9) gefasst und in flüssiger Luft aufbewahrt. Im Kühlraum ( $0^{\circ}\text{C}$ ) werden drei 15 ml fassende Pottergefäße, in denen sich je 8 ml Methanol + 1.0 mg Pyrogallol/ml befinden, in Methanol von  $-50$  bis  $-60^{\circ}\text{C}$  vorgekühlt. Ausserdem werden 8 Schliffreagenzgläser von 15 ml Fassungsvermögen vorbereitet. Die beiden ersten sind für den Leerwert bestimmt und enthalten je 5.0 ml Petroläther (Siedebereich  $40 - 60^{\circ}\text{C}$ , sooft destilliert, bis er nach Abdampfen im Vakuum ohne sichtbaren Rückstand bleibt) und 4.0 ml Methanol + 1.0 mg Pyrogallol/ml sowie 2 Tropfen Aqua dest. Die anderen 6 Schliffreagenzgläser, je 2 für einen Versuch, enthalten je 5.0 ml Petroläther und 1 Tropfen Aqua dest. Im Kühlraum wird der Vorhof mit einer Pinzette aus der flüssigen Luft in ein mit flüssiger Luft vor-

gekühltes Tablettiergerät nach Mommaerts (10), modifiziert nach Hoffmann (2), gebracht und mit zwei Hammerschlägen pulverisiert und zu einer Tablette gepresst. Diese wird sofort gewogen und anschliessend in dem vorgekühlten Pottergefäss homogenisiert (1 - 2 Min.). Mit einer 5-er Messpipette werden je 3.5 ml des Homogenates in die für jeden Versuch entsprechend gekennzeichneten Schliffreagenzgläser einpipettiert und der Rest auf beide Gläser tropfenweise verteilt. Sofort werden beide Gläser exakt eine Minute geschüttelt. Auch der Leerwert wird zuletzt eine Minute geschüttelt. Alle 8 Gläser werden bei 2400 Umdrehungen/Min. 5 Min. zentrifugiert. Die Zentrifuge soll auslaufen. Die obere Schicht, welche den Petroläther bzw. Petroläther + Ubichinon enthält, wird mit fein ausgezogenen Pipetten in 8 neue Schliffreagenzgläser abpipettiert. In die ersten 8 Gläser wird zur weiteren Extraktion je 3.0 ml Petroläther einpipettiert und eine Minute kräftig geschüttelt, bei 3000 Umdrehungen/Min. 5 Min. zentrifugiert und auslaufen gelassen. Die obere Schicht wird mit dem ersten Petrolätherextrakt vereinigt. Der Petrolätherextrakt wird zur Entfernung von Phospholipoiden mit 2.0 ml 95 % Methanol 30 Sekunden geschüttelt und dann 5 Min. bei 3000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. 8 neue Schliffreagenzgläser werden vorbereitet. In den ersten Leerwert und in das erste Glas eines jeden Versuches werden 3.0 ml abs. Äthanol einpipettiert. In den zweiten Leerwert und in das zweite Glas jedes Versuches werden 3.0 ml abs. Äthanol + 5.0 mg  $\text{FeCl}_3$ /ml einpipettiert. Der methanolgewaschene Petrolätherextrakt wird zuerst in entsprechenden nur abs. Äthanol enthaltenden Gläser einpipettiert, die Gläser werden zugestöpselt und zur Durchmischung umgekippt. Zur Trennung von Petroläther und Alkohol werden je 2.0 ml Aqua dest. zugefügt und 5 Min. geschüttelt. Entsprechend wird mit den Äthanol +  $\text{FeCl}_3$  enthaltenden Gläsern verfahren. Erneut wird bei 3000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert und auslaufen gelassen. Die obere Petrolätherschicht wird in 5 ml-Becherglässchen abpipettiert und mit der Wasserstrahlpumpe über Silikagel abgedampft und

getrocknet. Der Rückstand wird in 1.0 ml spektroskopisch reinem 95 % Äthanol ( Uvasol Merck ) aufgenommen und in einer Mikroküvette in 2 cm Schichtdicke gegen den entsprechenden Leerwert gemessen. Die Messungen erfolgen bei 238 ( isobest. ), 258 ( red. Minimum ), 270, 275 ( oxyd. Maximum ), 280, 285, 290 ( red. Maximum ), 293 ( isobest. ), 301 ( isobest. ) m $\mu$  im Zeiss PMQ Spektralphotometer mit Spezial-Justierung für Mikroküvetten. Nach der Messung wird der Küvetteninhalt in die entsprechenden Bechergläschen zurückgegossen, mit einem Glasstab ein winziges Kriställchen NaBH<sub>4</sub> ( Natriumborhydrid ) zugegeben, die Gläschen werden leicht geschwenkt und das reduzierte Ubichinon wieder von 238 - 301 m $\mu$  durchgemessen. Die Küvetten werden mit Äthanol gespült und die mit Eisenchlorid behandelten Extrakte, in denen alles Ubichinon oxydiert vorliegt, analog gemessen. Beide red. Maxima bei 290 m $\mu$  müssen übereinstimmen. Wird zuwenig NaBH<sub>4</sub> zugegeben, liegt das red. Maximum bei 280 statt bei 290 m $\mu$ , wird zuviel NaBH<sub>4</sub> zugegeben, trübt sich der Küvetteninhalt und die isobest. Punkte liegen zu hoch.

Berechnung:

$$n\text{-Mol Ubichinon/g Frischgewicht} = f \times \frac{\Delta E (275) \text{ red.-ox.}}{\text{Vorhofgewicht (mg)}}$$

Unter Zugrundelegung des molaren Extinktionskoeffizienten von 12250 cm<sup>-1</sup> Mol Ubichinon für  $\Delta E$  275 m $\mu$  ( red.-ox. ) nach Pumphrey und Redfearn (8) errechnet sich der Faktor f für eine Küvette von 2.0 cm Schichtdicke zu 82.5 .

c) Adeninukletidbestimmung nach Kunz, Schmid und Siess (6) :

Die Verarbeitung der Vorhöfe ist bis zur Herstellung der Tablette die gleiche wie unter b) bei der Ubichinonbestimmung beschrieben. Die gefrorene Tablette wird mit einem Glasstab in 5 % Trichloressigsäure homogenisiert und der Muskelbrei 3 Min. durchmischt. Bis zu einem Vorhofgewicht von 150 mg werden 0.8 ml 5 % Trichloressigsäure, über 150 mg 1.0 ml 5 % Trichloressigsäure benötigt. Der Muskelbrei wird im Kühlraum 10 Min. scharf abzentrifugiert. Der Überstand wird chromatographiert. Dazu werden Chromatographiepapiere 2045 B gl ( Schleicher und Schüll ) in einer Grösse von ca. 14 x 42 cm zugeschnitten und in der späteren Trennlösung 3 x je 24 Stunden vorgewaschen und nach jedem Waschen getrocknet. 0.3 ml des Extraktes, höchstens 4 Extrakte pro Papier, werden mit dem Auftropfgerät aufgetropft. Das Papier soll in dem Steiggefäss etwa 0.5 cm in die Trennlösung eintauchen. Die Durchlaufzeit beträgt 16 - 24 Stunden bei einer Temperatur von 16 - 18°C. Die Trenn- bzw. Vorwaschlösung besteht aus einem Gemisch von 100.0 ml Isopropanol, 100.0 ml Isobutanol, 200.0 ml wasserfreiem Azeton, 100.0 ml 97 % Ameisensäure und 200.0 ml Aqua dest. + 205 mg Titriplex III. Das getrocknete Chromatogramm wird über Photopapier ( Agfa Copex, DIN A 4 ) mit Heftzwecken auf einem gebogenen Holzbrett befestigt und unter Wedeln 3 - 4 Sekunden mit UV-Licht belichtet, dabei dürfen nur 2 - 3 Grünlampen brennen. Die Photos werden in Metol-Hydrochinonentwickler 1 : 2 entwickelt, dann fixiert, gewässert und in der Trockenpresse mit der Schichtseite nach oben getrocknet. Das Chromatogramm wird über das Photo auf eine durchleuchtete Glasplatte gelegt, die Fraktionen werden durchgezeichnet und ausgeschnitten, zerschnitten und in Reagenzgläsern mit 4 ml n/10 HCl eluiert. Ein Papierleerwert in

Höhe und Grösse der Fraktionen wird stets mitangesetzt. Nach 20 Stunden Elution wird bei 260 m $\mu$  in einer 1 cm Quarzküvette gegen n/10 HCl gemessen.

Berechnung:

Adeninnukletidgehalt in mikro-Mol/g Frischgewicht =

$$\frac{(E - L) \times 0.315 \times \text{Extraktionsvol. (ml)} \times 1000}{\text{Vorhofgewicht (mg)} \times \text{Auftropfvoll. (ml)}}$$

E = Extinktion des Eluates bei 260 m $\mu$

L = Extinktion des Papierleerwertes bei 260 m $\mu$

Die im Text verwendeten Abkürzungen bedeuten:

ATP = Adenosintriphosphat

ADP = Adenosindiphosphat

AMP = Adenosinmonophosphat

GAP = Summe von ATP, ADP und AMP

FG = Organ-Frischgewicht

Zur statistischen Sicherung der Ergebnisse wurde der t - Test nach Student herangezogen (12). Zunächst wurde der mittlere Fehler der Einzelmessung nach der Formel  $\sigma_E = \sqrt{\frac{\sum (M - E)^2}{n - 1}}$  und der mittlere Fehler des Mittelwertes nach der Beziehung  $\sigma_M = \sqrt{\frac{\sum (M - E)^2}{(n - 1) \cdot n}}$  bestimmt. Die Signifikanz der Differenz zweier Mittelwerte wurde nach der Formel  $t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{6M_1^2 + 6M_2^2}}$  ermittelt. ( $\sigma_E$  = mittlerer Fehler der Einzelmessung, M = Mittelwert, E = Einzelwert,  $\sigma_M$  = mittlerer Fehler des Mittelwertes, n = Anzahl der Versuche).

### III

## E r g e b n i s s e

### A

Untersuchungen zur Methode der Ubichinonbestimmung:

a) Einfluss der Extraktion auf Ubichinonmenge und Ubichinon-redoxstatus:

1) Einmalig Ubichinonextraktion mit Petroläther, 30 Min. Vorhofschlagzeit, 6 Bestimmungen:

$32.6 \pm 2.1$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$118.8 \pm 4.6$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$27.7 \pm 2.5$  % oxyd. Ubichinon in vivo

$2.73 \pm 0.27$  Q Ubichinol/Ubichinon

Erwartungsgemäss wird bei einmaliger Extraktion insgesamt weniger Ubichinon extrahiert, jedoch bleibt der prozentuale Anteil an oxydiertem Ubichinon unverändert. Man darf also annehmen, dass bei der verwendeten Methode oxydiertes und reduziertes Ubichinon gleichmässig extrahiert werden.

2) Extraktion des gesamten Ubichinons in einem grossen Schliffreagenzglas. Der Petrolätherextrakt wurde erst vor der Behandlung mit  $\text{FeCl}_3$  in zwei gleiche Teile geteilt. Vorhofschlagzeit 30 Min., 10 Bestimmungen:

$47.5 \pm 4.1$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$139.7 \pm 4.6$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$34.6 \pm 3.0$  % oxyd. Ubichinon in vivo

$2.12 \pm 0.27$  Q Ubichinol/Ubichinon

Unter der Vermutung, dass nach dem Pottern die grösseren

Teilchen schneller sedimentierten und deshalb die Gewebsmenge in den geteilten Homogenaten ungleichmässig sei, sollte sich der Petrolätherextrakt genauer in zwei gleiche Teile teilen lassen. Im Ergebnis wird jedoch die Übereinstimmung der gemessenen Maxima des reduzierten Ubichinons nicht besser. Der Redoxzustand des Ubichinons wird zur oxydierten Seite verschoben.

b) Einfluss von stoffwechselaktiven Substanzen auf den Ubichinonredoxzustand während des Potterns:

- 1) Vorhofschlagzeit 60 Min., Mittelwerte aus 3 Bestimmungen, bei denen dem zum Pottern verwendeten Methanol kein Pyrogallol zugesetzt war:

48.6 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
141.6 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
34.5 % oxyd. Ubichinon in vivo  
1.95 Q Ubichinol/Ubichinon

Ohne Pyrogallolzusatz geringfügige Weiteroxydation des Ubichinons. Pyrogallol musste bei den folgenden Untersuchungen weggelassen werden, weil es bei Zugabe von KCN sofort zu braunen Chinonen oxydiert wird.

- 2) Vorhofschlagzeit 60 Min., Mittelwerte aus drei Bestimmungen, bei denen dem zum Pottern verwendeten Methanol KCN ( 0.005 m ) zugesetzt war:

42.2 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
155.1 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
26.9 % oxyd. Ubichinon in vivo  
2.73 Q Ubichinol/Ubichinon

3) Vorhofschlagzeit 60 Min., Mittelwerte aus drei Bestimmungen, bei denen dem zum Pottern verwendeten Methanol Na-Succinat ( 0.005 m ) zugesetzt war:

43.1 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
148.7 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
28.4 % oxyd. Ubichinon in vivo  
2.58 Q Ubichinol/Ubichinon

4) Vorhofschlagzeit 60 Min., Mittelwerte aus 3 Bestimmungen, bei denen dem zum Pottern verwendeten Methanol KCN ( 0.005 m ) und Na-Succinat ( 0.005 m ) zugesetzt waren:

42.8 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
158.4 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
26.9 % oxyd. Ubichinon in vivo  
2.73 Q Ubichinol/Ubichinon

Die Untersuchungen 2 - 4 zeigen, dass bei den tiefen Temperaturen im Pottergefäß keine nennenswerten Stoffwechselreaktionen ablaufen, die den Ubichinonredoxzustand verändern könnten.

Ein Einfluss der Lagerungszeit der Vorhöfe in flüssiger Luft auf den Ubichinonredoxzustand konnte nicht gefunden werden.

c) Einfluss der Erholungszeit in der Nährlösung auf Ubichinone und energiereiche Phosphate:

1) 8 Ubichinon- und 6 Adennukleotidwerte, Schlagzeit der Vorhöfe 30 Min.:

$43.6 \pm 4.4$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $152.0 \pm 8.5$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $28.5 \pm 2.1$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $2.66 \pm 0.28$  Q Ubichinol/Ubichinon

$3.16 \pm 0.11$  mikro-Mol ATP/g FG = 73.6 %  
 $0.75 \pm 0.06$  " " ADP/g FG = 17.4 %  
 $0.39 \pm 0.07$  " " AMP/g FG = 9.0 %  
 $4.30 \pm 0.21$  " " GAP/g FG =  
 ATP / ADP = 4.2

2) Normalwerte zur vorliegenden Untersuchung. Schlagzeit der Vorhöfe 60 Min. ( spätestens nach 20 Min. sind Frequenz und Hubhöhe konstant ). 9 Versuche zu Beginn der Versuchsreihen, 6 weitere Versuche zur Kontrolle über die Zeit der Versuchsreihen verteilt ( P-Tyrode + Glucose,  $O_2$  ):

$39.7 \pm 2.1$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $147.5 \pm 4.3$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $26.8 \pm 0.95$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $2.74 \pm 0.12$  Q Ubichinol/Ubichinon

6 Adeninnukleotidwerte:

$2.38 \pm 0.12$  mikro-Mol ATP/g FG = 74.0 %  
 $0.77 \pm 0.07$  " " ADP/g FG = 19.5 %  
 $0.25 \pm 0.01$  " " AMP/g FG = 6.5 %  
 $3.90 \pm 0.11$  " " GAP/g FG  
 ATP / ADP = 3.8

Ubichinon- und Adeninnukleotidwerte sind von den 30 Min.-Werten statistisch nicht zu unterscheiden.

Der Redoxstatus des Ubichinons befindet sich in guter Übereinstimmung mit den Werten von Hoffmann (2), während das Gesamt-Ubichinon geringfügig höher liegt.

Die Adeninnukleotidwerte entsprechen den in der Methode von Kunz et al. (6) angegebenen Normalwerten.

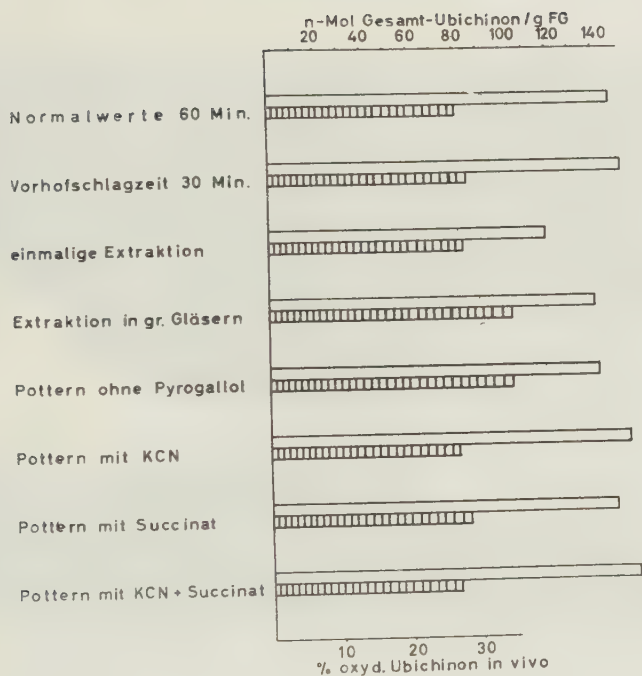


Abb. 1

Übersicht über die geringen Schwankungen im Ubichinonredoxstatus (schraffiert) und in der Ubichinonmenge (weiss) bei Veränderung der Ubichinonextraktion.

## B

### Beeinflussung des Ubichinonredoxstatus in vivo:

I) Der Ubichinonredoxstatus unter Adrenalin und Persantin ohne vorhergehenden Stoffwechselblock.

a) Adrenalin allein:

1) 6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. 2 Min. Adrenalin 10<sup>-6</sup>g/ml:

36.2 ± 2.0 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
155.0 ± 2.5 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
23.4 ± 1.0 % oxyd. Ubichinon in vivo  
3.25 ± 0.17 Q Ubichinol/Ubichinon

Unter Adrenalin wird eine Frequenzsteigerung und positiv inotrope Wirkung beobachtet.

Der prozentuale Anteil des oxydierten Ubichinons ist zwar zurückgegangen, aber von den Normalwerten nicht zu unterscheiden ( F = 19, t = 2.46, p = 0.05 ).

- 2) 6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode +  
Glucose +  $O_2$ . 2 - 3 x Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml 30 Min.:

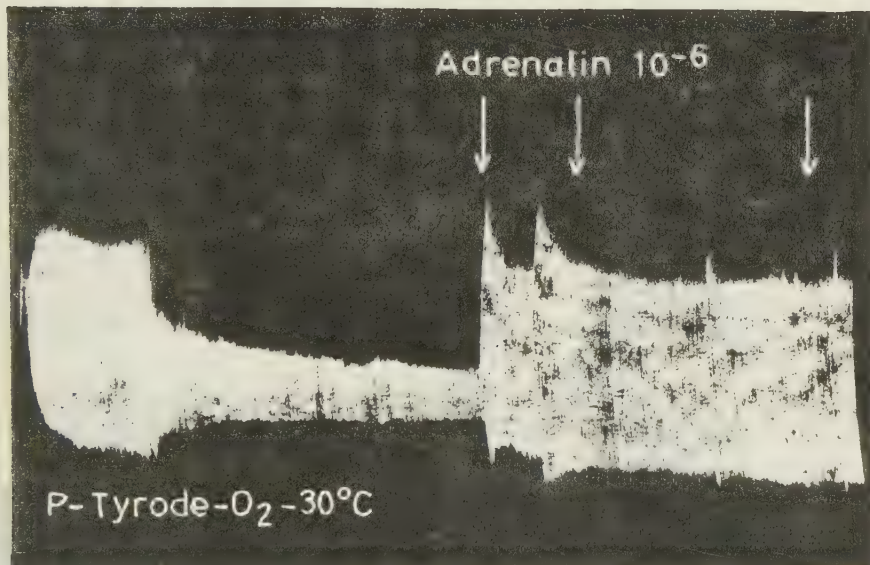


Abb.2

$43.3 \pm 4.1$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $155.7 \pm 2.5$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $27.5 \pm 1.8$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $2.71 \pm 0.24$  Q Ubichinol/Ubichinon

Unter Adrenalin zeigt sich eine anhaltende positiv  
chronotrope und positiv inotrope Wirkung.

Die Ubichinonwerte weichen vom Normalwert nicht ab  
(  $F = 19$ ,  $t = 0.345$ ,  $p = 0.80$  ).

b) Persantin allein:

10 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 30 Min. 2 x Persantin  $10^{-5}$  g/ml:

$28.5 \pm 1.7$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$130.6 \pm 3.1$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$21.8 \pm 1.2$  % oxyd. Ubichinon in vivo

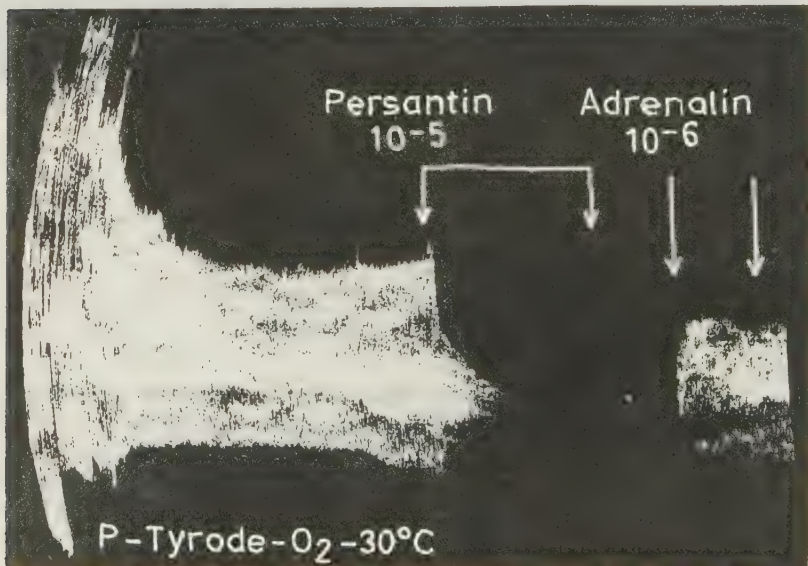
$3.71 \pm 0.28$  Q Ubichinol/Ubichinon

Persantin hat, wie am nicht vorgeschädigten Herzmuskel immer beobachtet, eine negativ inotrope Wirkung.

Der prozentuale Anteil des oxydierten Ubichinons in vivo ist gegenüber den Normalwerten sicher zurückgegangen (  $F = 23$ ,  $t = 3.27$ ,  $p = 0.01$  ).

c) Adrenalin und Persantin:

8 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . In 30 Min. 2 x Persantin  $10^{-5}$  g/ml und 2 x Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml:



$35.3 \pm 2.6$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $144.4 \pm 5.0$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $24.3 \pm 1.0$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $3.17 \pm 0.19$  Q Ubichinol/Ubichinon

Die negativ inotrope Wirkung des Persantins wird durch Adrenalin wieder aufgehoben.

Der Ubichinonredoxstatus wird gegenüber der alleinigen Persantinwirkung wieder normalisiert (  $F = 21$ ,  $t = 1.81$ ,  $p = 0.10$  ).

---.---.---.---.---

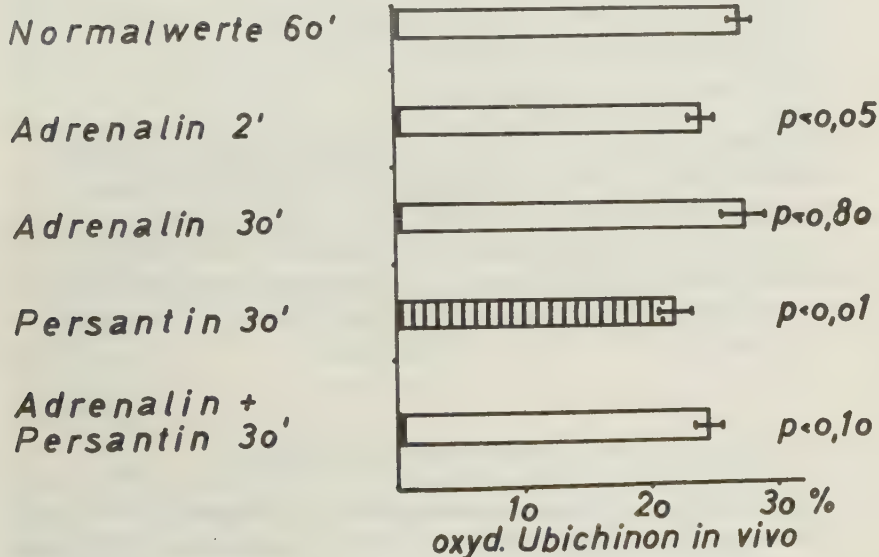


Abb.4

Der Ubichinonredoxstatus der ersten 4 Versuchsreihen.  
 ( Die signifikante Ubichinonreduktion durch Persantin  
 ist durch Schraffur hervorgehoben.)

I) Ubichinonredoxstatus und energiereiche Phosphate bei Natriumfluoridblock der Glykolyse und ihre Beeinflussung durch Adrenalin, Persantin und Laktat:

a) Beeinflussung durch Natriumfluorid allein:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. 30 Min. NaF m/75 :

48.6 ± 4.9 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 145.3 ± 9.6 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 32.9 ± 1.2 % oxyd. Ubichinon in vivo  
 2.05 ± 0.12 Q Ubichinol/Ubichinon

2.86 ± 0.11 mikro-Mol ATP/g FG = 75.8 %  
 0.67 ± 0.04 " " ADP/g FG = 17.5 %  
 0.25 ± 0.01 " " AMP/g FG = 6.7 %  
 3.78 ± 0.12 " " GAP/g FG  
 ATP / ADP = 4.3

Natriumfluorid hat, vermutlich als Folge einer Ca-Mangelwirkung ( CaF<sub>2</sub> ), eine rasche negativ inotrope Wirkung. Die Kontraktionsamplituden sind um etwa 50 % abgesunken. Während bei den Adeninnukleotidwerten kein Unterschied zu den Normalwerten besteht, ist der prozentuale Anteil des oxydierten Ubichinons angestiegen ( F = 19, t = 3.99, p = 0.001 ).

b) Beeinflussung durch Adrenalin nach NaF-Block:

1) 6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. 10 Min. NaF m/75, 10 Min. Adrenalin 10<sup>-6</sup>/g ml:

70.3 ± 1.6 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 148.6 ± 3.5 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 47.3 ± 0.7 % oxyd. Ubichinon in vivo  
 1.10 ± 0.10 Q Ubichinol/Ubichinon

$2.54 \pm 0.18$  mikro-Mol ATP/g FG = 67.9 %  
 $0.78 \pm 0.05$  " " ADP/g FG = 20.8 %  
 $0.42 \pm 0.02$  " " AMP/g FG = 11.3 %  
 $3.74 \pm 0.27$  " " GAP/g FG  
 ATP / ADP = 3.3

Adrenalin zeigt im Gegensatz zum unbeeinflussten Vorhof eine nur kurze positiv inotrope Wirkung, während die Frequenzsteigerung länger anhält.

Der Ubichinonredoxstatus ist erhöht (  $F = 10$ ,  $t = 10.8$ ,  $p = 0.001$  ). Die Erniedrigung der ATP-Werte ist nicht gesichert (  $F = 10$ ,  $t = 1.57$ ,  $p = 0.20$  ).

2) 8 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 10 Min. NaF m/75, 20 Min. Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml:

$109.7 \pm 3.7$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $164.2 \pm 5.2$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $67.0 \pm 3.2$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $0.513 \pm 0.07$  Q Ubichinol/Ubichinon

6 Adeninnukleotidbestimmungen:

$2.32 \pm 0.14$  mikro-Mol ATP/g FG = 66.9 %  
 $0.76 \pm 0.03$  " " ADP/g FG = 21.9 %  
 $0.39 \pm 0.02$  " " AMP/g FG = 11.2 %  
 $3.47 \pm 0.17$  " " GAP/g FG  
 ATP / ADP = 3.0

Nach 20 Min. Adrenalin ist die anfängliche positiv inotrope Wirkung verschwunden. Die Frequenzsteigerung dauert jedoch an.

Der Ubichinonredoxstatus ist erhöht (  $F = 21$ ,  $t = 12.04$ ,  $p = 0.001$  ); er ist auch gegenüber der vorhergehenden Serie ( 10 Min. Adrenalin ) erhöht (  $F = 12$ ,  $t = 6.01$ ,  $p = 0.001$  ). Die ATP-Werte sind erniedrigt (  $F = 10$ ,  $t = 3.11$ ,  $p = 0.02$  ).

3) 9 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 10 Min. NaF m/75, 30 Min. Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml:

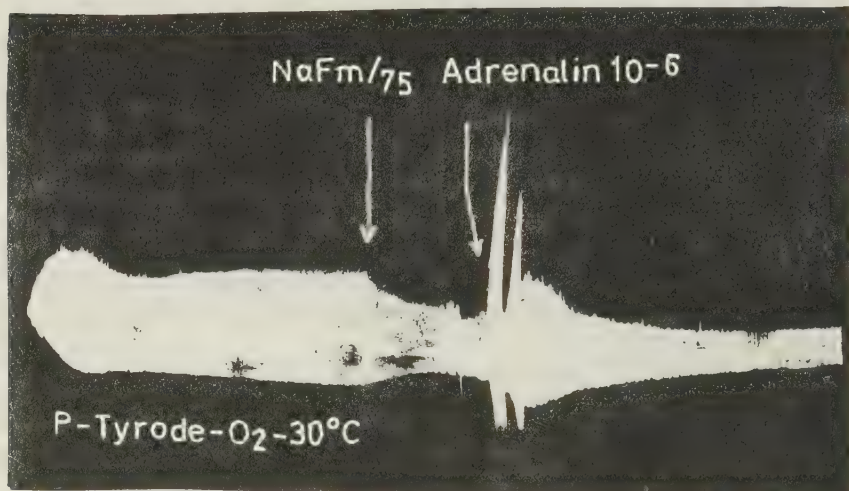


Abb. 5

$94.6 \pm 8.4$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $159.3 \pm 8.4$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $58.7 \pm 3.9$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $0.748 \pm 0.123$  Q Ubichinol/Ubichinon

6 Adeninnukleotidbestimmungen:

$1.92 \pm 0.13$  mikro-Mol ATP/g FG = 65.3 %  
 $0.71 \pm 0.028$  " " ADP/g FG = 24.2 %  
 $0.21 \pm 0.073$  " " AMP/g FG = 10.5 %  
 $2.94 \pm 0.28$  " " GAP/g FG  
 ATP / ADP = 2.7

Nach 30 Min. Adrenalineinwirkung hält die Frequenzsteigerung an. Gelegentlich werden zuletzt Extrasystolen beobachtet. Der prozentuale Anteil an oxydiertem Ubichinon ist erhöht (  $F = 22$ ,  $t = 7.96$ ,  $p = 0.001$  ). Von den Werten für 20 Min. Adrenalin (  $F = 15$ ,  $t = 1.64$ ,  $p = 0.20$  ) und 10 Min. Adrenalin (  $F = 13$ ,  $t = 2.88$ ,  $p = 0.02$  ) ist er nicht bzw. nicht sicher zu unterscheiden. Bei starkem Absinken des ATP/ADP-Quotienten ist der ATP-Schwund gesichert (  $F = 10$ ,  $t = 5.42$ ,  $p = 0.001$  ).

c) Der Einfluss von Persantin auf die durch Adrenalin hervorgerufene Erschöpfung nach NaF-Block:

9 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 10 Min. NaF  $m/75$ , 10 Min. Adrenalin  $10^{-6}g/ml$ , 6 - 10 Min. Persantin  $10^{-5}g/ml$  ( auf dem Wirkungsmaximum abgenommen ):

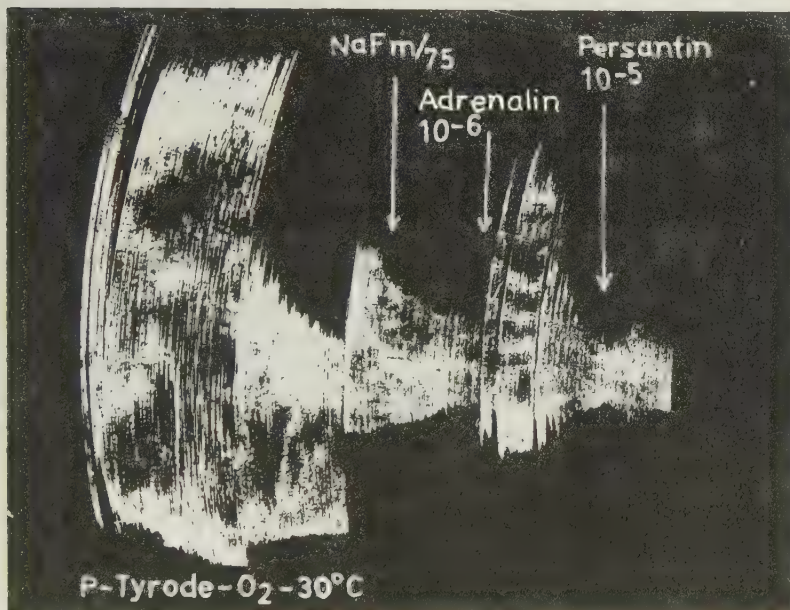


Abb.6

82.1  $\pm$  7.1 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 159.3  $\pm$  6.4 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 50.9  $\pm$  2.4 % oxyd. Ubichinon in vivo  
 0.979  $\pm$  0.083 Q Ubichinol/Ubichinon

6 Adeninnukleotidbestimmungen:

3.01  $\pm$  0.06 mikro-Mol ATP/g FG = 74.0 %  
 0.69  $\pm$  0.04 " " ADP/g FG = 17.0 %  
 0.37  $\pm$  0.05 " " AMP/g FG = 9.0 %  
 4.07  $\pm$  0.10 " " GAP/g FG  
 ATP / ADP = 4.3

Nachdem die positiv inotrope Wirkung des Adrenalins abgeklungen ist und nur noch die Frequenzbeschleunigung besteht, bewirkt Persantin eine erneute, wenn auch geringe positiv inotrope Wirkung.

Der Anteil des oxydierten Ubichinons ist immer noch erhöht. Jedoch liegt der Wert sicher niedriger als nach 20 Min. dauernder Adrenalineinwirkung allein ( $F = 22$ ,  $t = 4.25$ ,  $p = 0.001$ ), d.h., verglichen mit dem Wert für 10 Min. Adrenalineinwirkung wird durch Persantin die Weiteroxydation des Ubichinons verhindert. Der Absolutwert für ATP liegt sogar geringfügig über dem Normalwert. Die ATP-Zunahme gegenüber dem erniedrigten Wert für die 20 Min. Adrenalineinwirkung ist gesichert ( $F = 10$ ,  $t = 4.25$ ,  $p = 0.001$ ). Auffallend ist der hohe ATP/ADP-Quotient.

d) Gleichzeitiger Einfluss von Persantin und Adrenalin nach dem NaF-Block:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 10 Min. NaF m/75, gleichzeitig, d.h. vor Erschöpfung, Adrenalin  $10^{-6}$ g/ml und Persantin  $10^{-5}$ g/ml 20 Min.:

$97.9 \pm 6.8$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$166.1 \pm 7.6$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$58.9 \pm 3.1$  % oxyd. Ubichinon in vivo

$0.719 \pm 0.084$  Q Ubichinol/Ubichinon

$2.56 \pm 0.26$  mikro-Mol ATP/g FG = 71.3 %

$0.75 \pm 0.07$  " " ADP/g FG = 20.9 %

$0.28 \pm 0.02$  " " AMP/g FG = 7.8 %

$3.59 \pm 0.35$  " " GAP/g FG

ATP / ADP = 3.4

Persantin, mit Adrenalin gleichzeitig gegeben, ändert am Wirkungstyp des Adrenalins: kurze positiv inotrope, lange positiv chronotrope Wirkung, nichts. Gleichzeitig werden weder der erhöhte Ubichinonredoxstatus noch die geringfügig erniedrigten energiereichen Phosphate über die alleinige Adrenalinwirkung hinaus beeinflusst.

e) Einfluss von Laktat auf den durch NaF-Block und Adrenalin erschöpften Herzvorhof:

7 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 10 Min. NaF m/75, 20 Min. Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml, 10 Min. Na-Laktat 0.015 m :

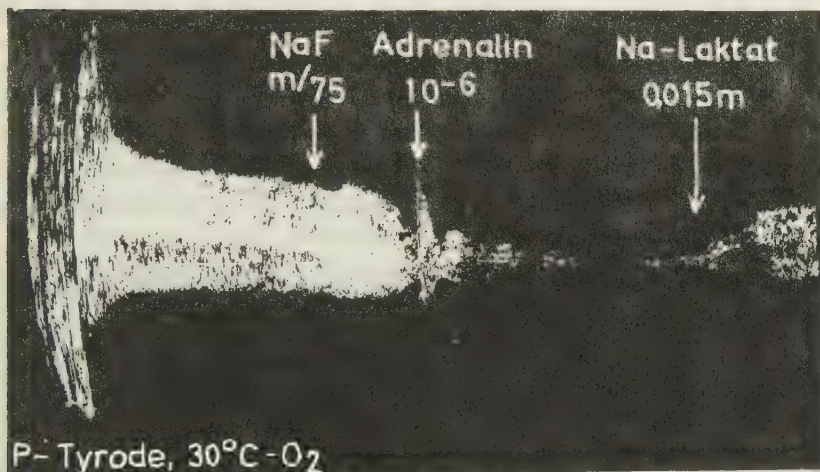


Abb. 7

$56.3 \pm 3.3$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$149.6 \pm 5.6$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$37.8 \pm 1.4$  % oxyd. Ubichinon in vivo

$1.66 \pm 0.10$  Q Ubichinol/Ubichinon

6 Adeninnukleotidbestimmungen:

$2.00 \pm 0.14$  mikro-Mol ATP/g FG = 69.9 %

$0.55 \pm 0.04$  " " ADP/g FG = 19.2 %

$0.31 \pm 0.04$  " " AMP/g FG = 10.9 %

$2.86 \pm 0.15$  " " GAP/g FG

ATP/ADP = 3.6

Na-Laktat vermag die Adrenalinerschöpfung im Mechanogramm wieder völlig aufzuheben. Der Anteil des oxydierten Ubichinons ist zwar gegenüber den 30 Min. Adrenalinwerten sicher geringer (  $F = 14$ ,  $t = 5.18$ ,  $p = 0.001$  ), aber

immer noch deutlich höher als der Normalwert (  $F = 20$ ,  $t = 12.4$ ,  $p = 0.001$  ), so dass mit Laktat der Normalzustand nicht ganz wiederhergestellt wird. Im Gegensatz zur deutlichen funktionellen und weitgehenden Restitution im Ubichinonsystem ist ATP unverändert erniedrigt (  $F = 10$ ,  $t = 4.78$ ,  $p = 0.001$  ), bei normalem ATP/ADP-Quotienten.

f) Persantin in Kombination mit Laktat nach NaF-Block und Adrenalingabe:

7 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 10 Min. NaF m/75, 20 Min. Adrenalin  $10^{-6}$ g/ml, gleichzeitig 10 Min. Na-Laktat 0.015 m + Persantin  $10^{-5}$ g/ml :

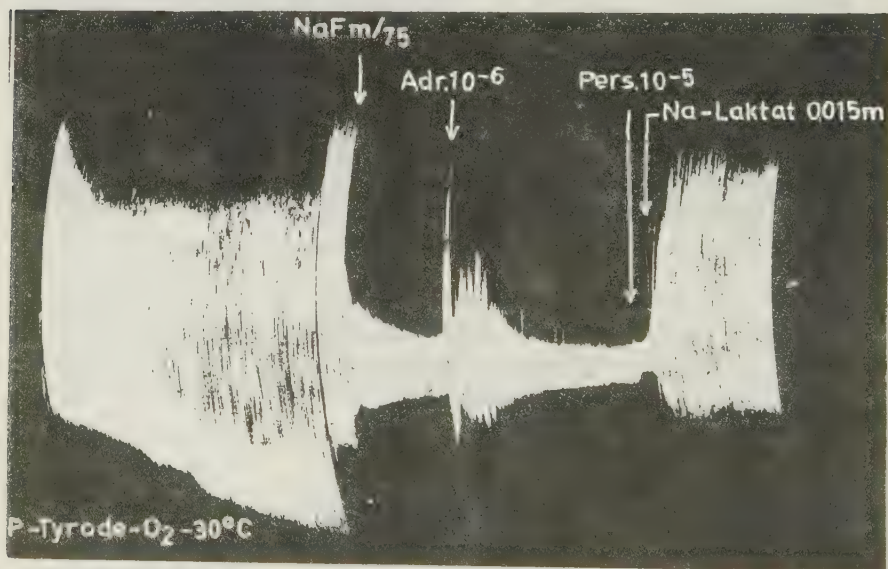


Abb. 8

$64.6 \pm 4.8$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $152.8 \pm 5.4$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $42.2 \pm 2.4$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $1.44 \pm 0.17$  Q Ubichinol/Ubichinon

## 6 Adeninnukleotidbestimmungen:

$3.30 \pm 0.23$  mikro-Mol ATP/g FG = 73.0 %

$0.70 \pm 0.05$  " " ADP/g FG = 15.5 %

$0.52 \pm 0.05$  " " AMP/g FG = 11.5 %

$4.52 \pm 0.31$  " " GAP/g FG

ATP / ADP = 4.7

Persantin verstärkt die erholende Wirkung des Na-Laktats auf den isolierten Vorhof.

Die Kombination von Persantin und Laktat erzielt am Ubichinonsystem die gleiche Wirkung wie Laktat allein: Rückgang des Anteils des oxylierten Ubichinons, jedoch keine Normalisierung des Redoxstatus.

Die ATP-Werte sind gegenüber den 30 Min. Adrenalinwerten und alleinigen Laktatwirkung sicher angestiegen (  $F = 10, t = 5.52, p = 0.001$  ) und sogar etwas höher als die Normalwerte.

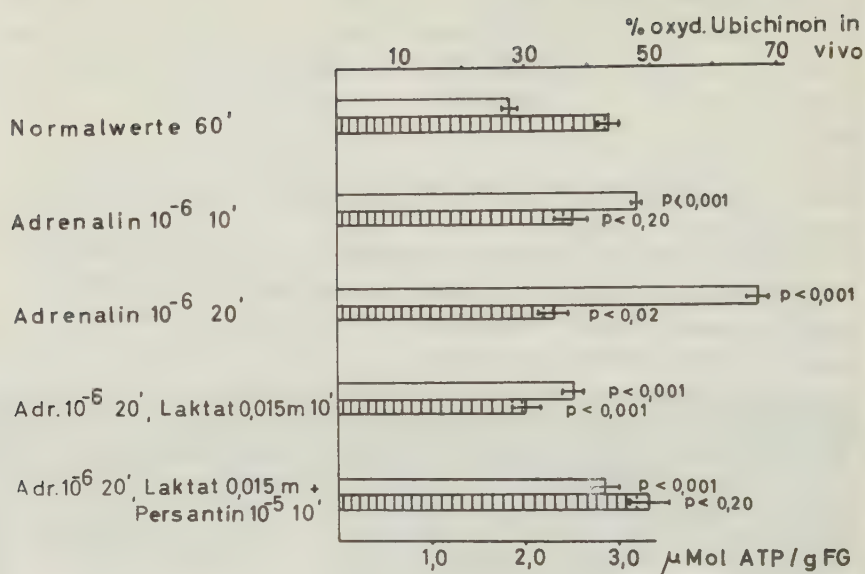


Abb. 9

Rasche Ubichinonoxydation durch Adrenalin nach NaF-Block, gleichzeitig ATP-Abfall.

Mit Laktat Ubichinonreduktion bei weiterem ATP-Abfall. Mit Laktat + Persantin keine Verstärkung der Ubichinonreduktion, jedoch steiler ATP-Anstieg.

( Ubichinon weiss, ATP schraffiert gezeichnet. )

III) Ubichinonredoxstatus bei NaF-Block der Glykolyse und gleichzeitiger Glykogenolyse ( glucosefreie Tyrode ) sowie Einwirkung von Adrenalin, Persantin und Laktat.

1) Kurzzeitversuche ( 25 Min. ) :

a) Adrenalin nach NaF-Block:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. Glucosefrei spülen. 10 Min. NaF m/150, 25 Min. Adrenalin 10<sup>-6</sup>g/ml :

95.3 ± 5.9 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
162.4 ± 8.5 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
58.8 ± 2.6 % oxyd. Ubichinon in vivo  
0.717 ± 0.082 Q Ubichinol/Ubichinon

Beurteilung unter b).

b) 6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. Glucosefrei spülen. 10 Min. NaF m/150, 25 Min. gleichzeitig Adrenalin 10<sup>-6</sup>g/ml + Persantin 10<sup>-5</sup>g/ml:

89.1 ± 5.4 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
161.0 ± 8.1 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
55.6 ± 1.3 % oxyd. Ubichinon in vivo  
0.815 ± 0.044 Q Ubichinol/Ubichinon

Vorhoffunktion und Ubichinonredoxstatus entsprechen in etwa den vergleichbaren Ergebnissen der Reihen II b 3 und II d.

Auch im Vergleich der Reihen III a und b wird der Ubichinonredoxstatus durch Persantin nicht beeinflusst.

## 2) Langzeitversuche ( 1 1/2 Stunden ):

### a) Natriumfluorid allein :

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. Glucosefrei spülen. 90 Min. NaF m/150 :

125.0 ± 4.7 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

181.9 ± 5.2 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

68.3 ± 2.8 % oxyd. Ubichinon in vivo

0.476 ± 0.065 Q Ubichinol/Ubichinon

Funktionell zeigt auch hier NaF m/150 die gleiche negativ inotrope Wirkung wie NaF m/75 + Glucose. In den letzten 30 Min. erfolgt zunehmend Neigung zu Extrasystolen. Durch NaF m/150 allein wird in 1 1/2 Stunden die gleiche Ubichinonoxydation erreicht wie mit NaF m/75 10 Min. + Adrenalin 10<sup>-6</sup>g/ml 20 Min. ( II b 3 ). Auffallend ist die starke Erhöhung der absoluten Ubichinonwerte ( F = 19, t = 3.45, p = 0.01 ) hier und in den drei folgenden Versuchsreihen.

### b) Einfluss von Na-Laktat bei NaF-Block:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose + O<sub>2</sub>. Glucosefrei spülen. 10 Min. NaF m/150, 80 Min. Na-Laktat 0.3 % :

60.7 ± 5.9 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

188.3 ± 7.2 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

32.1 ± 2.4 % oxyd. Ubichinon in vivo

2.19 ± 0.21 Q Ubichinol/Ubichinon

Bei funktionell völligem Vorhofstillstand nach der Laktatzugabe ist der Anteil des oxydierten Ubichinons zum Normalwert zurückgekehrt ( F = 19, t = 2.05, p = 0.10 ).

c) Einfluss von Na-Laktat und Adrenalin auf den NaF-Block:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode +  
Glucose + O<sub>2</sub>. Glucosefrei spülen. 10 Min. NaF m/150,  
20 Min. Na-Laktat 0.3 %, 60 Min. Adrenalin 10<sup>-6</sup>g/ml :

59.3 ± 6.2 n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

169.7 ± 8.3 n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

34.8 ± 3.1 % oxyd. Ubichinon in vivo

2.02 ± 0.36 Q Ubichinol/Ubichinon

Adrenalin behebt den Stillstand unter Laktat erst nach  
längerer Zeit; es führt nur zu niedrigen Kontraktions-  
amplituden und erheblicher Frequenzsteigerung.

Die Ubichinonoxydation durch NaF allein ist, wie in der  
vorhergehenden Serie, behoben und es besteht kein Unter-  
schied zu den Normalwerten. Die Adrenalinzugabe erfolgte  
absichtlich, im Gegensatz zu den vorhergehenden Ver-  
suchsreihen mit Glucose, nach der Laktat-Gabe. D.h., bei  
Anwesenheit von Laktat besteht trotz NaF-Anwesenheit  
durch Adrenalin keine weitere Erschöpfungsmöglichkeit.

d) Einfluss von Laktat, Adrenalin und Persantin auf den NaF-Block:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . Glucosefrei spülen. 10 Min. NaF m/150, 20 Min. Na-Laktat 0.3 %, 20 Min. Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml, 40 Min. Persantin  $10^{-4}$  g/ml und  $10^{-5}$  g/ml je 1 x :

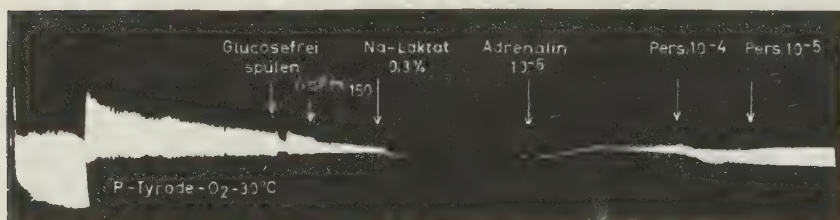


Abb. 10

$63.6 \pm 5.0$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo  
 $184.0 \pm 11.8$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG  
 $34.7 \pm 2.6$  % oxyd. Ubichinon in vivo  
 $1.94 \pm 0.21$  Q Ubichinol/Ubichinon

Funktionell wird durch Persantin keine deutliche Verstärkung der unter Adrenalin niedrigen Kontraktionshöhen beobachtet. Auch durch Zusatz von Persantin ist eine weitere, über die Laktat-Reduktion hinausgehende, Reduktion des Ubichinons nicht zu erreichen.

IV) Ubichinonredoxstatus und Adeninnukleotide bei Natriumfluorazetatblock des Zitronensäurezyklus:

6 Bestimmungen, 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 30 Min. Natriumfluorazetat  $0.015 \text{ m}$  :

$123.6 \pm 5.5$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$145.2 \pm 5.8$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$85.4 \pm 3.5$  % oxyd. Ubichinon in vivo

$0.182 \pm 0.023$  Q Ubichinol/Ubichinon

$2.49 \pm 0.13$  mikro-Mol ATP/g FG = 65.4 %

$1.09 \pm 0.09$  " " ADP/g FG = 28.6 %

$0.23 \pm 0.04$  " " AMP/g FG = 6.0 %

$3.81 \pm 0.17$  " " GAP/g FG

ATP / ADP = 2.3

Funktionell erfolgt Vorhofstillstand nach 10 - 15 Min., der durch Na-Succinat  $0.015 \text{ m}$  nicht zu beheben ist. Diese Versuchsanordnung erreichte vor allen anderen Versuchsreihen den höchsten Anteil an oxydiertem Ubichinon. Der ATP-Schwund ist gering und statistisch nicht gesichert. Der ATP/ADP-Quotient ist stark abgefallen.

V) Ubichinonredoxstatus bei Anaerobiose:

6 Bestimmungen. 30 Min. Einschlagzeit in P-Tyrode + Glucose +  $O_2$ . 30 Min. Erstickung mit reinem Stickstoff:

$20.9 \pm 2.9$  n-Mol oxyd. Ubichinon/g FG in vivo

$136.2 \pm 9.4$  n-Mol Gesamt-Ubichinon/g FG

$15.2 \pm 1.6$  % oxyd. Ubichinon in vivo

$5.90 \pm 0.62$  Q Ubichinol/Ubichinon

Durchperlung mit reinem Stickstoff führt funktionell nach wenigen Minuten zu völligem Vorhofstillstand.

Der Rückgang des oxydierten Ubichinons ist gesichert (  $F=19$ ,  $t = 6.34$ ,  $p = 0.001$  ).

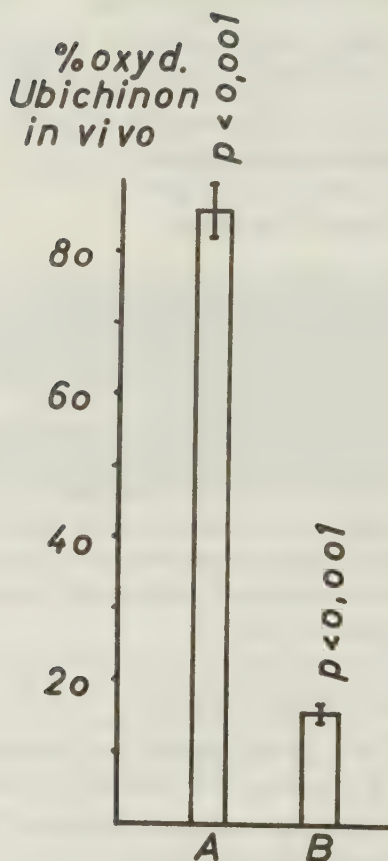


Abb. 11

Extreme Variabilität des Ubichinonredoxstatus durch:

- A) Natriumfluoracetat 0.015 m 30 Min. (85.4 % oxyd.) und
  - B) Erstickung mit reinem N<sub>2</sub> 30 Min. (15.2 % oxyd.).
- ( Normalwert: 26.8 % oxyd.)

### Diskussion der Ergebnisse

Da Chance in einer persönlichen Mitteilung einwandte, dass das Ubichinon nach seinen Messungen, im Gegensatz zu unseren Befunden, in vorwiegend oxydierter Form vorliege, wurde zunächst eine Versuchsreihe zur Extraktionsmethode durchgeführt. Bei besonders starker Vorkühlung der Pottergefäße sowie bei der Zugabe von KCN zur Blockade der Zytochromoxydase und von Succinat als verwertbarem Substrat ergab sich keine Verschiebung des Ubichinonredoxstatus gegenüber den Werten von Hoffmann. Die von uns angewendete Methodik scheint uns optimal zu sein. Angesichts des sehr sorgfältigen präparativen Vorgehens dürfte der in vivo bestehende Redoxstatus wiedergegeben werden. Unter Vorwegnahme später folgender Befunde werden in vivo Verschiebungen zur oxydierten Seite ( 85 % oxyd. ) und zur reduzierten Seite ( 15 % oxyd. ) gefunden. Wenn ein Fehler in der Methode vorläge, sollte er sich stets nur in einer Richtung bemerkbar machen. Es spricht ebenfalls für die Zuverlässigkeit der verwendeten Methodik, dass sich auch reversible Veränderungen im Ubichinonredoxstatus nachweisen liessen.

Der hochreduzierte Status des Ubichinonsystems wird, zumindest unter den Bedingungen des isoliert schlagenden Vorhofes, längere Zeit fixiert gehalten und bleibt es auch bei stärkeren Stoffwechselbelastungen. Dies geht aus den Versuchen mit Adrenalin  $10^{-6}$  g/ml, 30 Min., hervor, dass eine starke Erhöhung des Energieverbrauches auf Grund der positiv inotropen Wirkung und der Frequenzsteigerung nach sich zieht.

Persantin führte zu einer Ubichinonreduktion. Die Wirkung ist nicht einfach zu deuten, da die Substanz für sich allein eine negativ inotrope Wirkung mit nachfolgendem Stillstand, also eine Reduktion des Energieverbrauches, zeigte. In diesem Zusammenhang ist jedenfalls auffallend, dass, wenn durch Adrenalin die negativ inotrope Wirkung des Persantins auf den Vorhof aufgehoben wurde, auch der Ubichinonredoxstatus normalisiert wurde. Es ist also nicht auszuschliessen, dass die stärkere Hydrierung

des Systems mit der negativ inotropen Wirkung des Persantins auf den nicht vorgeschädigten Herzmuskel zusammenhängt, zumal Adrenalin allein den Redoxstatus ( s.o. ) nicht beeinflusst.

Die Verwendung von Natriumfluorid erschien uns deswegen zweckmässig, weil

1. der Stoffwechselblock noch in der Glykolyse einsetzt und dadurch der Zitronensäurezyklus wegen Substratmangel weniger Wasserstoff an die Atmungskette anliefert und es
2. deswegen möglich ist, den Block durch Milchsäure und Substrate des Zitronensäurezyklus aufzuheben.

Wie zu erwarten, führt der Natriumfluoridblock zu einer deutlichen Zunahme des oxydierten Ubichinonanteils.

Besonders interessant ist der Vergleich mit dem Verhalten der energiereichen Phosphate. Diese sind nach 30 Min. langer Einwirkung von Natriumfluorid nicht vermindert, trotz der Veränderung im Redoxzustand des Ubichinons. Allerdings ist wegen der negativ inotropen Wirkung wohl auch der Energieumsatz gehemmt. Wird nämlich durch Adrenalinzugabe eine erhöhte Kontraktionsamplitude, Frequenzsteigerung und Stoffwechselsteigerung bei bestehender Natriumfluorid-Hemmung erzwungen, so wird neben einer weiteren erheblichen Zunahme des Anteils an oxydiertem Ubichinon ATP deutlich vermindert, bei Absinken des ATP/ADP-Quotienten. Dies stimmt mit früheren Befunden überein ( Siess,4 ).

Laktat wird unter den gegebenen Bedingungen als Substrat voll verwertet: Es führt zu einer Verbesserung der Kontraktionsleistung und zu einer weitgehenden, wenn auch nicht völligen Normalisierung des Ubichinonredoxstatus. Im auffallenden Gegensatz dazu steht, dass, trotz weitgehender Restitution des Ubichinonredoxstatus und der Funktion, Laktat weder an der Menge noch an der Zusammensetzung der insgesamt verminderten energiereichen Phosphate etwas ändert.

Unter der Bedingung der Glykogenolyse ( glucosefreie Tyrode-Lösung ) wird durch Natriumfluorid qualitativ die gleiche Veränderung hervorgerufen. Es bestehen aber deutliche quantitative Unterschiede. Zunächst fällt auf, dass bei geringerer Natriumfluorid-Konzentration, aber bei längerer Einwirkung, die Ubichinonoxydation stärker ist. Ein weiterer Unterschied besteht

in der Beeinflussung der Funktion: Laktat führt hier zu völligem Stillstand. Danach werden durch Adrenalin nur noch geringe Kontraktionsamplituden erreicht. Im Gegensatz zur geringen Beeinflussung der mechanischen Leistung wird in beiden Fällen der Ubichinonredoxstatus völlig normalisiert. Auch hier bleibt zu klären, ob die völlige Restitution des Ubichinonsystems mit der geminderten Funktion oder der längeren Einwirkung von Laktat zu erklären ist.

Eine besonders starke Oxydation des Ubichinons wurde durch Fluorazetat beobachtet. Wenn man annimmt, dass die Substanz nur den Zitronensäurezyklus blockiert, wird der Schluss nahegelegt, dass das Ubichinon seinen Wasserstoff weitgehend aus dem Tricarbonsäurezyklus bezieht. Die Fluorazetatwirkung zeichnet sich durch besondere Irreversibilität aus. Weder durch häufiges Spülen noch durch Succinat-Zugabe trat, beurteilt an der Funktion, eine Erholung ein.

Als ein Gegenstück zur Fluorazetatwirkung könnte die Anaerobiose durch Stickstoffdurchströmung angesehen werden, die nach wenigen Minuten zu funktionellem Stillstand führt. Hier ist nämlich die vermehrte Anhäufung von Wasserstoff und das Ausbleiben seiner Oxydation von einer verstärkten Reduktion des Ubichinons begleitet.

Über die Wirkung des Persantins lässt sich im Zusammenhang mit dem Natriumfluorid-Block Folgendes sagen: Im Konzentrationsbereich  $10^{-5}$  bis  $10^{-4}$  g/ml vermag Persantin die nach Laktat beobachtete Erholung des durch Natriumfluorid und Adrenalin erschöpften Vorhofes zu beschleunigen, denn es zeigt sich eine verstärkte Kontraktionsleistung und, was besonders auffallend ist, eine Restitution der energiereichen Phosphate, ohne dass gleichzeitig das Ubichinonsystem über die Laktatwirkung hinaus beeinflusst wird. Derselbe Wirkungstyp fand sich auch, wenn Persantin allein auf den durch Adrenalin verstärkten NaF-Block einwirkte. Auch hier führte es zu einer Verbesserung der Kontraktionsleistung und völliger Normalisierung der energiereichen Phosphate, während sich am stark oxydierten Zustand des Ubichinonsystems nichts änderte. Um so auffallender ist es, dass

die gleichzeitige Gabe von Persantin und Adrenalin beim Fluorid-Block die erschöpfende Wirkung des Adrenalins nicht aufhalten konnte. Wir möchten für die Wirkung des Persantins zur Diskussion stellen: Offensichtlich bewirkt die Substanz eine Auffüllung des durch NaF und Adrenalin herabgesetzten Energiespiegels ohne Mitbeteiligung des Ubichinonsystems. Für diesen Effekt kommt unseres Erachtens in Frage:

- 1) Eine katalytische Wirkung auf die Phosphorylierung, oder
- 2) eine direkte Weiterleitung des Wasserstoffs zur Atmungskette unter Umgehung des Ubichinons.
- 3) Die Tatsache, dass Persantin nur am stark erschöpften Muskel wirkt, könnte damit im Zusammenhang stehen, dass Persantin nur durch eine geschädigte Membran in die Zelle eindringen kann.

Für das Ubichinonsystem selbst möchten wir aus unseren Ergebnissen den Schluss ziehen, dass es an den Wasserstofffluss des Stoffwechsels, insbesondere des Kohlenhydratstoffwechsels, angeschlossen ist und Veränderungen des Wasserstoffflusses in relativ kurzer Zeit rasch mitmacht. Ob das Ubichinonsystem ein Wasserstoffreservoir im Seitenschluss der Atmungskette darstellt, oder ob es in den direkten Weg des Wasserstoffs zur Atmungskette eingeschaltet ist, kann aus den Versuchen nicht entschieden werden.

## Z u s a m m e n f a s s u n g

- 1) Die Methode nach Pumphrey und Redfearn in der Modifikation nach Hoffmann erlaubt eine genaue Bestimmung des Ubichinon-redoxstatus in vivo.
- 2) Die Versuche am isolierten Meerschweinchenherzvorhof ergaben:
  - a) Unter Persantin  $10^{-5}$  g/ml 30 Min. wird der Ubichinonredoxstatus geringfügig zur reduzierten Seite verschoben.
  - b) Unter Hemmung der Glykolyse mit NaF m/75 wird Ubichinon oxydiert.
  - c) Die Ubichinonoxydation nach NaF-Block wird durch Adrenalin ausserordentlich gesteigert. Diese Oxydation ist zeitabhängig. Gleichzeitig fällt ATP kontinuierlich ab.
  - d) Na-Laktat vermag die durch NaF und Adrenalin ausgelöste Ubichinonoxydation wieder weitgehend rückgängig zu machen, dabei bleibt jedoch ATP unverändert erniedrigt.
  - e) Die reduzierende Wirkung des Na-Laktats auf das vorher oxydierte Ubichinonsystem wird durch Persantin nicht beeinflusst. Die ATP-Menge steigt jedoch stark an.
  - f) Persantin vermag die nach NaF-Block und Adrenalin hervorgerufene Ubichinonoxydation nur kurze hinauszuzögern, kann sie aber nicht verhindern.
  - g) In Langzeitversuchen wird bei Glykogenolyse und gleichzeitiger Hemmung der Glykolyse durch NaF ebenfalls eine beträchtliche Ubichinonoxydation erzielt. Diese Oxydation wird durch längere Laktateinwirkung völlig beseitigt. Die Ubichinonreduktion durch Na-Laktat durch Adrenalin allein noch durch Adrenalin und Persantin beeinflusst.
  - h) Natriumfluorazetat als Hemmer des Zitronensäurezyklus erzielt eine besonders hohe Ubichinonoxydation.
  - i) Bei Anaerobiose wird das Ubichinonsystem weitgehend reduziert.

## VI

### Literaturverzeichnis

- 1) Hatefi, Y: Coenzyme Q ( Ubiquinone ), *Advanc. Enzymolog.* 25, 275 - 328 ( 1963 )
- 2) Hoffmann, P.C., Kunz, H.W., Schmid, W., and Siess, M. : The Determination of the Level and Redox Quotient of Ubiquinone 50 ( Coenzyme Q 10 ) in Guinea Pig Heart in vivo. *Biochem. Z.* 339, 548 - 558 ( 1964 )
- 3) Hoffmann, P.C., Kunz, H.W. and Siess, M. : Changes in the Redox Quotient of Ubiquinone, Substrate Levels, and Energy-Rich Phosphates Induced by Metabolic Inhibitors in Isolated Guinea Pig Atria. *Biochem. Z.* 339, 559 - 572 ( 1964 )
- 4) Siess, M.: Funktion und Energiestoffwechsel des erschöpften Herzmuskels unter der Wirkung von 2,6 - Bis ( diaethanolamino ) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido ( 5,4 - d ) pyrimidin. *Arzneim.-Forsch.* 12, 683 - 691 ( 1962 )
- 5) Kunz, W., Schmid, W. und Siess, M.: Untersuchungen zur Wirkung von 2,6 - Bis ( diaethanolamino ) - 4,8 - dipiperidino - pyrimido ( 5,4 - d ) pyrimidin auf den Herzstoffwechsel. *Arzneim. Forsch.* 12, 1098 - 1109, ( 1962 )
- 6) Kunz, W., Schmid, W. und Siess, M.: Die Bestimmung von Adeninnukleotiden und Hexosephosphateestern in Gewebsextrakten. *Z.f.d.ges.exp. Med.* 130, 328 - 342 ( 1958 )
- 7) Schmid, W. und Siess, M.: Über die Grenzbedingungen von Zellleben und spezifischer Zellfunktion am isolierten Muskel. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 263, 492 ( 1956 )

- 8) Pumphrey, A.M. and Redfearn, E.R.: A Method for Determining Concentration of Ubiquinone in Mitochondrial Preparations.  
Biochem. J. 76, 61 ( 1960 )
- 9) Wollenberger, A., Krause, E.G. und Wahler, B.E.: Über den tatsächlichen Orthophosphat-und N- Phosphoryl-kreatingehalt des Säugetierherzens.  
Pflügers Arch. ges. Physiol. 270, 413, ( 1960 )
- 10) Mommaerts, W.F.H.M.: Investigation of the Presumed Break-down of Adenosine-Triphosphate and Phosphocreatine During a Single Muscle Twitch.  
Amer. J. Physiol. 182, 585 ( 1955 )
- 11) Crane, F.L., Hatefi, Y., Lester, R.L. and Widmer, C.: Isolation of a Quinone from Beef Heart Mitochondria.  
Biochim. Biophys. Acta ( Amst. ) 25, 220 ( 1957 )
- 12) Geigy-Tabellen, 6. Auflage. Basel 1962
- 13) Chance, B.: Direct Spectroscopic Observations of the Oxidation-Reduction Reactions of Ubiquinone in Heart and Kidney Mitochondria.  
in: Ciba-Foundation Symposium : Quinones in Electron Transport 327 - 345 ( 1961 )
- 14) Redfearn, E.R.: The Possible Role of Ubiquinone in the Respiratory Chain.  
in: Ciba-Foundation Symposium : Quinones in Electron Transport 346 - 366 ( 1961 )

Herrn Professor Dr. med. M. Siess danke ich für die Überlassung des Themas und seine Anleitung bei der Durchführung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. med. W. Schmid für seine Anregungen und Unterstützung, sowie für die Übernahme des Correferates.

## Lebenslauf

Am 19. 4. 1937 wurde ich, Hermann von Greve-Dierfeld, als Sohn des Landwirtes und Obersten a.D. Hermann von Greve-Dierfeld und seiner Ehefrau Annemarie, geb. Oldenburg, in Wittlich/Eifel geboren.

Von 1943 - 1946 besuchte ich die Volksschule in Laufeld, von 1946 - 1955 die neusprachlichen Gymnasien in Boppard und Wittlich. Am 5. 3. 1955 legte ich in Wittlich die Reifeprüfung ab.

Zunächst studierte ich drei Semester Rechtswissenschaft in Hamburg und Tübingen, anschliessend zwölf Semester Medizin in Tübingen, Hamburg, Mainz und Marburg. Das Physikum bestand ich am 24.4.1959 in Tübingen, das medizinische Staatsexamen am 13.12.1962 in Marburg. Neben dem klinischen Studium begann ich mit dem Chemiestudium und legte im Mai 1961 in Tübingen das chemische Vordiplom ab. Nach dem medizinischen Staatsexamen studierte ich in Marburg drei weitere Semester Chemie.

Von der Medizinalassistentenzeit verbrachte ich sechs Monate auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses in Daun, acht Monate im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg und zwei Monate in der Universitätsfrauenklinik Marburg.

Seit dem 1.1.1965 arbeite ich als wissenschaftlicher Assistent im Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren  
und Dozenten in:

Tübingen:

Bader, Bartels, R. Bauer, Beller, Bennhold, Bihl, Bollnow,  
Brecht, Brodersen, v. Brunn, Buddecke, Bünning, v. Dadelsen,  
Dick, Dürig, Eisner, Erbe, Fechner, Feneis, Friedrich-Freksa,  
Fröhlich, Gierer, Gössner, Gohrbandt, Gottron, Hager, Hellmann,  
R. Herrmann, Hillmann, Hückel, Humperdinck, Kern, Kiese, Knörr,  
Kortüm, Krüger, Letterer, Mackensen, Missmahl, Möhres, Mörike,  
E. Müller, Nitschke, Ott, Probst, Pulewka, Reichert, Roemer,  
Rüdorff, Scheurlen, Schmidhäuser, Schneider, Schweizer, Seybold,  
Spechter, Strohecker, Wundt, Zeh.

Hamburg:

Bautzmann, Bondy, Dotzauer, Felgentraeger, Ferner, Genzmer,  
Henkel, Husmann, Kühnau, Krüger, Lau, Lübke, Mette, Möller,  
Mond, Neuert, Ralfs, Remy, Schultze v. Lasaulx, Sieverts,  
Staubesand, Tesar, Zeiger.

Mainz:

Albers, Bock, Gillissen, Heinemann, Horner, Komant, Kranz,  
Muscholl, Peters, Voit, Wagner.

Marburg:

Berendes, Bock, Böhme, Braun-Falco, Dimroth, Exner, Förster,  
Gedigk, Gerok, Gross, Grüter, F. Hartmann, Hornung, de Iturri-  
barria, Jacob, Kirmse, Kottmeyer, Kuhn, Lang, Lübbers, Mahr,  
Mueso, Marx, Maurath, W. Meyer, Neubauer, Niessing, Oehme,  
Oelkers, Pfeil, Rodeck, Schmid, M. Schmidt, Schölmerich,  
Schrappé, Schultheis, Schwaiger, Seelig, Siess, Stein, Straub,  
Streicher, Witzel.







